



MEIO FERTICULT IVF INSTRUÇÕES DE USO

NOME: MEIO FERTICULT IVF

NOME TÉCNICO: MEIO DE CULTURA PARA FERTILIZACAO IN VITRO

MARCA: FERTIPRO

CLASSIFICAÇÃO NORMATIVA:Resolução RDC 185/2001

Regra: 13

Classe: Classe IV

ABREVIações USADAS

ICSI	Injeção espermática intracitoplasmática
FIV	Fertilização in vitro

DESCRIÇÃO DO PRODUTO:

Meio FertiCult IVF é um meio de cultura celular tamponado com bicarbonato para lavagem e conservação de oócitos humanos, realizando fertilização por FIV ou ICSI (até 2PN). O meio é completo e não necessita nenhum aditivo.

Como em todos os meios de FIV, o Meio FertiCult IVF deve ser pré-incubado em uma incubadora com CO₂ com 6% de CO₂ por pelo menos 4 horas, mas idealmente durante a noite, antes do uso (com a tampa aberta) para obter um pH ótimo para lavagem/ conservação de oócito. Somente para uso profissional.

PRODUTO ESTÉRIL

CÓDIGO	NOME DO PRODUTO	QT
FECU020PHR_G	Meio FertiCult IVF com vermelho de fenol e gentamicina	5 x 20ml
FECU050PHR_G	Meio FertiCult IVF com vermelho de fenol e gentamicina	5 x 50ml
FECU100PHR_G	Meio FertiCult IVF com vermelho de fenol e gentamicina	3x 100ml

COMPOSIÇÃO

Meio FertiCult IVF é um meio pronto para uso, solução salina balanceada, tamponado com bicarbonato, suplementado com glicose (5.55 mM), lactato, piruvato e albumina sérica humana (4g/litro). O produto apresenta com vermelho de fenol e gentamicina (10mg/litro).

NOME	IDENTIFICADOR DO PRODUTO	FUNÇÃO
Água ultrapura	(CAS No) 7732-18-5 (EC no) 231-791-2	Solvente
Cloreto de sódio	(CAS No) 7647-14-5 (EC no) 231-598-3	Sais Básicos
Albumina Sérica Humana - 25% (Albumina Sérica Humana, Caprilato de Sódio, N-Acetil-DL-Triptofano e Água pra Injeção)	(CAS No) 70024-90-7	Propriedade protetora I
Lactato de sódio	(CAS No) 867-56-1 (EC no) 212-762-3	Propriedade protetora II
Hidrogenocarbonato de Sódio	(CAS No) 144-55-8 (EC no) 205-633-8	Sais Básicos
Glicose Monohidratada	(CAS No) 14431-43-7	Substratos energéticos
Cloreto de potássio	(CAS No) 7447-40-7 (EC no) 231-211-8	Sais Básicos
Cloreto de cálcio di-hidratado	(CAS No) 10035-04-8	Sais Básicos
Dihidrogenofosfato de sódio di-hidratado	(CAS No) 13472-35-0	Sais Básicos
Sulfato de magnésio hepta-hidratado	(CAS No) 10034-99-8	Sais Básicos
Piruvato de sódio	(CAS No) 113-24-6 (EC no) 204-024-4	Substratos energéticos
Sulfato de gentamicina	(n° CAS) 1405-41-0	Antibiótico
Vermelho de fenol	(n° CAS) 34487-61-1	Indicador de pH

FUNÇÃO	DESCRIÇÃO
Solvente	Para dissolver todas as matérias-primas em pó.
Sais Básicos	O papel dos sais equilibrados diluídos em água purificada é proporcionar um ambiente iônico que promove o metabolismo celular e equilíbrio osmótico extracelular.

<p>Propriedade protetora I</p>	<p>É amplamente aceito que a presença de albumina nos meios de preparação de esperma proporciona propriedades protetoras que ajudam a manter a viabilidade e motilidade do esperma.</p> <p>Também, as proteínas em meios tipicamente servem como agentes estabilizadores de membrana e transportadores (bem como uma fonte) de moléculas essenciais (Malda, et al., 2008). Além disso, a albumina de soro humano (HSA) facilita a manipulação de gametas ou embriões impedindo a adsorção à superfície através da saturação dos locais de ligação potenciais. Além disso, tem sido formulada a hipótese de que as proteínas poderiam ajudar a desintoxicar meios de comunicação através da ligação de contaminantes (Blake, Svalander, Jin, Silversand, & Hamberger, 2004).</p>
<p>Propriedade protetora II</p>	<p>Monóxido de glicose e piruvato de sódio são substratos metabólicos essenciais. O lactato é também frequentemente adicionado ao meio de cultura como xarope de lactato de sódio. Sabe-se que os espermatozoides geram energia principalmente através de frutólise (glicólise uma vez removida do plasma seminal), acumulando ácido láctico como subproduto metabólico. Portanto, adicionar lactato ao esperma pode parecer desnecessário. Contudo, a admissão de ar numa população de espermatozoides anaeróbios glicolizantes diminui a taxa de utilização de açúcar e o ácido láctico sofre oxidação como substrato para a respiração exógena. Como os espermatozoides humanos são expostos a uma atmosfera de ar ambiente durante o manuseio, processamento e análise, geralmente é adicionado algum lactato em meios de esperma (Mortimer e Mortimer, 2014).</p>
<p>Substratos energéticos</p>	<p>Existem duas formas principais pelas quais os mamíferos podem gerar ATP: pela oxidação de substratos energéticos em CO₂ e H₂O e pela conversão da glicose em ácido láctico por glicólise.</p> <p>Os oócitos têm um consumo baixo de oxigênio (Magnusson, Hillensjö, Hamberger, & Nilsson, 1986). Eles dependem de baixos níveis de oxidação do piruvato. O último é metabolizado diretamente para produzir ATP e conseqüentemente pode refletir a viabilidade do</p>

	<p>oócitos. De fato, demonstrou-se que os oócitos com níveis reduzidos de trifosfato de adenosina (ATP) têm um reduzido potencial de desenvolvimento (Van Blerkom, Davis, & Lee, 1995).</p> <p>Em embriões humanos, o piruvato suporta o desenvolvimento da fertilização e revelou-se essencial para o desenvolvimento pre-implantação precoce de embriões humanos (Conaghan, Handyside, Winston, & Leese, 1993). O lactato é adicionado aos meios de cultura de embriões para a maioria das espécies de mamíferos. Ele regula o metabolismo do piruvato e mantém potenciais redox (NAD + / NADH) (Bavister, 1995). Embora a captação de glicose esteja presente em níveis muito baixos, acredita-se geralmente que a glicose não é necessária para a sobrevivência de embriões humanos pré-implantação precoce (Bavister, 1995). Contudo, a incorporação de glicose aumenta dramaticamente na transição entre a mórula e o estágio de blastocisto (Wales, Whittingham, Hardy & Craft, 1987) e torna-se a fonte de energia preferida.</p> <p>A energia para a motilidade do esperma e as características de movimento necessárias para a fertilização são produzidas pelas mitocôndrias na parte central do espermatozóide (Mitchell, Nelson, & Hafez, 1976). A glicose é necessária para manter uma concentração ótima de ATP no esperma humano através da glicólise e para suportar a motilidade ótima, mesmo quando o esperma é fornecido com lactato e piruvato adequados para suportar a respiração mitocondrial (Williams & Ford, 2001). De fato, a adição de glicose 5 mM resultou em valores mais elevados de VAP de espermatozóides quando comparados com meio contendo glicose a 2,8 mM. Além disso, a glicose aumenta a hiperatividade do espermatozóide do tipo “whiplash”, o que aumenta a fertilização (Mahedevan, Miller, & Moutos, 1997).</p>
Antibiótico	<p>Os antibióticos são frequentemente utilizados para evitar a contaminação bacteriana que pode ocorrer mesmo quando se trabalha em condições assépticas. De fato, as bactérias podem ser</p>

	<p>facilmente introduzidas nos meios de cultura através dos espermatozoides como consequência de uma infecção acessória da glândula, contaminação ou recolha inadequada de amostras de sêmen. De qualquer forma, as condições estéreis são imperativas nas tecnologias humanas in vitro. Foi documentado que os oócitos cultivados em meios de inseminação infectados produzem taxas de fertilização reduzidas ou nenhuma fecundação (Forman, Guillet-Rosso, & Fran, 1987) (Huyser, Foune, Oosthuizen & Neethling, 1991). Além disso, a contaminação do sistema de cultura pode levar a um desenvolvimento embrionário sub-ótimo (Guillet-Ross, Fari, & Taylor, 1987). A suplementação com antibióticos utiliza rotineiramente concentrações determinadas em estudos pioneiros que avaliaram a sua toxicidade em sistemas de cultura de células. A concentração recomendada para gentamicina é de 50 µg/mL (Perlman, 1979). Consequentemente, esta concentração padrão foi adotada em meios de cultura</p>
Indicador de pH	<p>A estabilização do pH é essencial quando se manipula gâmetas ou embriões. Portanto, a validação de alterações de pH é fortemente recomendada.</p> <p>Alterações na cor média também agem como um indicador de contaminação bacteriana ou fúngica. A infecção afeta o pH e isso pode ser facilmente observado em meio contendo um indicador de pH como o vermelho de fenol.</p>

ESTERILIZAÇÃO:

Meio FertiCult IVF é esterilizado por técnicas de processamento asséptico (filtração estéril).

Os meios de cultura celular descritos nesse documento são soluções sensíveis ao calor, para os quais uma esterilização terminal resultaria em um nível de segurança de esterilidade (SAL) 10^{-6} não alcançado. A integridade dos componentes do meio só pode ser assegurada com o uso de técnicas de processamento assépticas (filtração) levando a um SAL de $< 10^{-3}$.

ESPECIFICAÇÕES DO PRODUTO

- Composição química
- pH: 7.20 - 7.50 (37°C – 6% CO₂)
- Osmolalidade: 270 - 290 mOsm/kg
- Esterilidade: Estéril (SAL 10⁻³)
- Endotoxinas: < 0.25 EU/ml
- Ensaio clínico com camundongos (blastocistos expandidos em 96h após FIV no meio teste): ≥ 80%
- Uso da escala Ph Eur ou USP para matérias primas, se relevante

PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO:

Durante a punção folicular, o líquido folicular contendo oócitos são aspirados e encaminhados ao laboratório. Ao receber o material, o profissional do laboratório deverá fazer a lavagem e incubação dos oócitos. Os oócitos devem ser lavados para a remoção dos fluidos corpóreos, ou seja, líquido folicular e sangue, para que as células sejam completamente isoladas e mantidas em cultivo no Meio FertiCult IVF. Os óvulos devem ser lavados com este meio, que é próprio para os gametas.

A lavagem é feita através da pipetagem dos oócitos em gotas do Meio FertiCult IVF. Os oócitos são pipetados em novas gotas de meio, descartando o fluido corpóreos em gotas anteriores, isolando os oócitos no Meio FertiCult IVF.

Após punção e lavagem dos oócitos, estes deverão ser conservados, mantidos incubados no Meio FertiCult IVF até o momento da fertilização dos oócitos com espermatozóides. E, após fertilização, os zigotos deverão ser mantidos na incubadora, no Meio FertiCult IVF, até o dia seguinte, no momento da checagem da fertilização, ou seja, visualização dos pró-núcleos. Após checagem da fertilização, os zigotos já devem ser transferidos para o Meio Gain da Fertipro, próprio para o desenvolvimento embrionário.

FORMAS DE APRESENTAÇÃO:

EMBALAGEM PRIMÁRIA:

COD. COMP.	QT.	DESCRIÇÃO E COMPOSIÇÃO
FECU020PHR_G	20ml	Frascos de vidro tipo 1 hermeticamente fechados, com lacre revestidos de teflon (em concordância com as exigências da Farmacopéia Européia) e tampas de alumínio.
FECU050PHR_G	50ml	
FECU100PHR_G	100ml	

EMBALAGEM SECUNDÁRIA:

CÓD. COMPONENTE	QT	DESCRIÇÃO E COMPOSIÇÃO
FECU020PHR_G	5	Todos os componentes embalados em caixa de papel cartolina branca (Tambrite) - Acompanha com as instruções de uso.
FECU050PHR_G	5	
FECU100PHR_G	3	

EMBALAGEM DE TRANSPORTE:

QT.	DESCRIÇÃO E COMPOSIÇÃO	IMAGEM
*	São embalados em caixas de isopor (Resina de Poliestireno Grau GP31). - Existem 3 tamanhos conforme pedido.	
*	A caixa de isopor é embalada em caixa de papelão. - Existem 3 tamanhos conforme pedido.	
* Depende da quantidade solicitada.		

DESEMPENHO PREVISTO NOS REQUISITOS GERAIS DA REGULAMENTAÇÃO DA ANVISA QUE DISPÕE SOBRE OS REQUISITOS ESSENCIAIS DE SEGURANÇA E EFICÁCIA DE PRODUTOS MÉDICOS, BEM COMO QUAISQUER EVENTUAIS EFEITOS SECUNDÁRIOS INDESEJÁVEIS:

INDICAÇÃO

Meio FertiCult IVF é um meio de cultura celular tamponado com bicarbonato para lavagem e conservação de oócitos humanos, realizando fertilização por FIV ou ICSI (até 2PN). O meio é completo e não necessita nenhum aditivo.

CONTRA-INDICAÇÃO:

- O produto não é indicado para transferência embrionária.

INSTRUÇÕES DE USO DO PRODUTO:
VERIFICAÇÕES PRÉ USO

- Não usar o produto se o mesmo ficar descolorido (se o meio contiver vermelho de fenol), turvo ou demonstrar qualquer evidência de contaminação microbiana.

- Não usar o produto se o lacre do recipiente estiver aberto ou defeituoso quando o produto for entregue.

MATERIAL NÃO INCLUSO

- Incubadora a 37°C (6% CO₂)
- Placas de Petri (ex. placas de cultura Falcon IVF culture dishes (BD), placas de cultura Nunc culture dishes for IVF (Thermo Scientific) e tubos de ensaio
- Óleo mineral (ex. FertiCult™ Mineral Oil)
- Fluxo laminar (ambiente ISO 5) e microscópio

MÉTODO

PRÉ-EQUILÍBRIO DO MEIO

Incubar o meio (em placas de cultura ou frascos com tampas desenroscadas) em uma incubadora de CO₂ a 37°C e 6% CO₂. Idealmente o meio deve ser pré-incubado durante a noite antes do uso (ou por pelo menos 4 horas).

Importante: Ler a observação sobre pH ótico, CO₂ e pressão atmosférica abaixo.

Quando realizado o pré-equilíbrio nas placas de cultura, seguir as instruções abaixo:

- Para micro gotas: 6-8 gotas de 25-250 µl de meio FIV FertiCult™ pode ser dispersado ao redor de um poço/placa de cultura de 6 cm. Para manter o pH, temperatura e osmolalidade, assegurar-se de que as gotas estão completamente cobertas por óleo (ex. FertiCult™ Mineral Oil, FertiPro N.V.). Geralmente são colocados 1-5 oócitos por micro gota.
- Alternativamente o meio pode ser usado para fertilização em sistema aberto como placas de Falcon / Nunc. Aproximadamente 1mL do meio é colocado em cada poço. Meio adicional é colocado no reservatório em volta dos poços. Isso ajuda a manter a umidade, assim como disponibiliza meio que pode ser usado para lavar os oócitos. Podem ser cultivados juntos até 5 oócitos por placa/poço.

No sistema aberto óleo de parafina não é necessário, mas as vezes uma camada de 1mL de óleo mineral pode ser adicionada sobre o meio dentro do

poço. Quando se utilizar de sistema aberto, a incubadora deve ser umidificada.

LAVAGEM/CONSERVAÇÃO DE OÓCITOS E FERTILIZAÇÃO POR FIV OU ICSI

Depois do equilíbrio do meio, as placas preparadas devem estar prontas para o uso. Durante a coleta de oócitos, os mesmos são identificados no aspirado folicular e lavados antes de serem colocados nos poços ou gotas na placa. Depois da coleta, os oócitos serão checados, podendo ser lavados novamente antes de colocados em novas gotas/poços para cultura durante a noite. Geralmente, dentro de 6 horas de sua coleta, os oócitos serão inseminados por FIV ou ICSI com esperma preparado e então serão deixados na incubadora durante a noite.

A presença de 2 pró-núcleos (2PN) é checada 16-20 horas após a fertilização. Uma vez que embriões forem identificados pela presença de 2 PN, eles serão colocados em placas novas contendo meio de cultura embrionário (ex. GAIN™ Medium, FertiPro N.V.) para cultura do embrião e posterior transferência.

Nota: Cultura em tubo de ensaio é raro, mas para os que ainda usam esse método, colocar 1 ml de Meio FIV FertiCult™ em cada tubo e depois realizar os mesmos procedimentos das placas Falcon ou Nunc.

NOTA SOBRE PH ÓTIMO, CO₂ E PRESSÃO ATMOSFÉRICA

Para cultura embrionária ótima, o meio FIV FertiCult™ deve ser usado em um pH de 7.20-7.35. Diferentes fatores como a concentração de CO₂ na incubadora e a pressão atmosférica (que diminui em maiores altitudes) têm um efeito no pH depois do equilíbrio na incubadora¹.

Assim, é aconselhado que se meça o pH sob condições de cultura com 6% CO₂ na incubadora para determinar a concentração de CO₂, o que resulta em um pH ótimo de 7.20-7.35.

ADVERTÊNCIAS, PRECAUÇÕES, CUIDADOS ESPECIAIS E ESCLARECIMENTO SOBRE O USO DO PRODUTO BEM COMO SEU ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE:

ARMAZENAMENTO E CONSERVAÇÃO

- Armazenar o Meio FertiCult IVF com gentamicina entre 2-8°C. Uma vez aberto, armazenar todos os produtos entre 2-8°C.

- Não congelar.
- Manter afastado da luz (solar).
- O produto pode ser utilizado seguramente em até 7 dias de aberto, quando mantidas condições estéreis e o produto for armazenado a 2-8°C.

TRANSPORTE:

- Transporte entre (2-8°C).
 - Não congelar.
 - Estável após o transporte (máx. 5 dias) a temperaturas elevadas ($\leq 37^{\circ}\text{C}$).
- Não usar após data de validade.

AVISOS E PRECAUÇÕES E PROCEDIMENTO DE DESCARTE:

Medidas padronizadas para prevenir infecções resultando do uso de produtos medicinais preparados a partir de sangue ou plasma humano incluem uma seleção de doadores, rastreio de doações e plasma pools para marcadores de infecções específicos e a inclusão de etapas efetivas de inativação ou remoção de vírus na fabricação. Apesar disso, quando produtos médicos preparados a partir de sangue ou plasma humanos são administrados, a possibilidade de transmitir agentes infecciosos não pode ser totalmente excluída. Isso também se aplica a vírus desconhecidos ou emergentes e outros patógenos. Não há relatos de transmissões virais comprovadas com albumina fabricada sob especificações da European Pharmacopoeia por processos consagrados. Portanto, lidar com todos os espécimes como capazes de transmitir HIV ou hepatites. Sempre usar vestuário protetor quando lidando com espécimes. Sempre trabalhar sob condições rígidas de higiene (ex. fluxo laminar, ISO Classe 5) para evitar possível contaminação, mesmo quando o meio FIV FertiCult™ contiver gentamicina.

Meio FertiCult IVF contém gentamicina, diante disso, precauções apropriadas devem ser tomadas para garantir que o paciente não seja sensibilizado para esse antibiótico.

IMPORTADOR:

INTERMEDICAL EQUIPAMENTOS UROLÓGICOS LTDA
RUA PAISSANDU 288 – LARANJEIRAS
RIO DE JANEIRO-RJ
CEP: 22210-080
01.856.395/0001-91

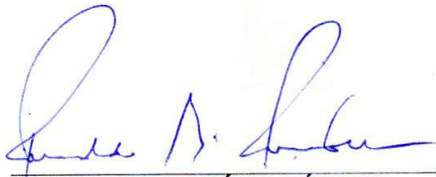
FABRICANTE LEGAL:

FERTIPRO N.V.
INDUSTRIEPARK NOORD 32
8730 BEERNEM, BELGICA

REGISTRO ANVISA N.º: XXXXXXXXX

RESPONSÁVEL TÉCNICO: Ronaldo Reis Fontoura - CRM 5251022-5

PRAZO DE VALIDADE: 12 meses após data de fabricação.



RESPONSÁVEL TÉCNICO
Ronaldo Reis Fontoura
CRM 5251022-5



REPRESENTANTE LEGAL
Ronaldo Reis Fontoura